

2013 年度 修士論文要旨

皮下腫瘍モデルマウスを用いた生組織の分光分析研究

関西学院大学大学院理工学研究科
生命科学専攻 佐藤研究室 澤 将規

本研究は、生体内の蛍光分子の自家蛍光によってがん組織のイメージングを行い、ラマン分光法によって検出される分子組成の情報との相関を分析して、組織型を無標識で詳細に診断する手法を確立することを目的とする。がんは不均一な細胞集団であり、腫瘍細胞のみならず、血管に関与する細胞、細胞外マトリクスなど、様々な組織から構成されている。自家蛍光の観測により広範囲のイメージ測定が可能だが、生体内に含まれる自家蛍光物質は少ないため、得られる情報量が比較的少ない。一方、ラマン分光はがん診断のツールとなることが他の研究により知られている⁽¹⁾。がん組織の分子組成の多くの情報を鋭敏かつ定量的にとらえることが可能であり、ターゲットとする微小領域の特徴の把握を補完するツールとなり得る。2つの手法を組み合わせることで、がん組織の複雑な組織型を無染色で把握する。

ヒト膀胱がん細胞 BxPC-3 及びヒト大腸がん細胞 DLD-1 を、BALB/c-*nu/nu* 系統のヌードマウスの皮下に移植し形成された腫瘍を実験に用いた。測定はマウスを麻酔した状態で *in situ* で行った。自家蛍光ハイパースペクトルシステムによる測定では、励起波長はモノクロメーターを用いて 250 nm から 500 nm の間の任意の波長を照射した。検出には、400 nm から 780 nm までの領域を 40 nm おきに、フィルター式分光器と CCD を用いた。イメージ像の主成分分析には MATLAB を用いた。ラマン分光測定では、励起光には波長 785 nm のダイオードレーザー、ラマン散乱光の検出に CCD を用いた。腫瘍組織に直接、中空ファイバーラマンプローブの先端を押し当て測定した⁽²⁾。ラマンスペクトルの多変量解析には The Unscrambler を用いた。測定後、組織の凍結標本より切片を作製し HE 染色を行い、顕微鏡で組織を観察した。

自家蛍光測定では、340 nm で励起し、460 nm で検出すると、イメージの一部にはっきりとしたコントラストが得られた。350 nm で励起し、420 nm で検出すると、イメージの全体に比較的弱い蛍光が観察された。測定後、同腫瘍を HE 染色し観察すると、腫瘍細胞が存在していた部分または染色の過程で脱落した部分や、線維化が進み間質に富んでいる部分が観察された。ハイパースペクトルデータに対し主成分分析を用いると、組織の表面の形状の違いや、スペクトルの特徴の違いによると考えられる主成分が見つかった。ハイパースペクトルイメージングによってコントラストが観察されたそれぞれの部分から、数点ずつラマンスペクトルを得た。得られたラマンスペクトルは主成分分析(PCA)によってよく判別できた。

(1) M. S. Bergholt, et al., *Analyst.*, 135: 3162-3168 (2010)

(2) T. Katagiri, et al., *Appl. Spectrosc.*, 63: 103-107 (2009)